Aus dem Gerichtsärztlichen Institut der Universität Breslau
Direktor: Professor Dr. Karl Reuter

Über die Zerstörbarkeit der agglutinablen Substanz der Blutkörperchen in Flecken unter Einwirkung verschiedener Reagenzien

---

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der Medizin und Chirurgie bei der Hohen Medizinischen Fakultät der Schlesischen Friedrich Wilhelms-Universität zu Breslau

vorgelegt von

Michael Schreiner

Breslau 1933

Druck von R. Nischkowsky

I. Referent: Prof. Dr. Straßmann.
II. Referent: Prof. Dr. Reuter.

Meiner Mutter

in Dankbarkeit gewidmet.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Über die Zerstörbarkeit der agglutinablen Substanz der Blutkörperchen in Flecken unter Einwirkung verschiedener Reagenzien.

Die Blutgruppenforschung, die erst in den letzten drei Jahrzehnten eingesetzt hat und seit ihrer Entdeckung rasche Fortschritte gemacht hat, ist auf jeglichem Gebiet der modernen Medizin heute von großer Bedeutung, sowohl vom rein wissenschaftlichen als mehr noch vom menschlichen Standpunkte. Es sei nur an die Transfusion, die Vererblichkeit und die Anwendung in der gerichtlichen Medizin erinnert. Diese so bedeutungsvolle Entdeckung läßt sich auf das Jahr 1901 zurückführen, als Karl Landsteiner seine Theorie bezüglich der gruppenspezifischen Substanzen aufstellte. Schon früher war man darauf aufmerksam geworden, daß das Serum eines Menschen die Blutkörperchen eines anderen zu agglutinieren vermag, und es war der Amerikaner S. G. Shattock, der schon 1899 und 1900 solche Beobachtungen veröffentlichte. Doch führte er dies, da er an kranken Personen experimentierte, auf eine pathologische Reaktion des Blutes zurück. Diese Deutung erschien damals so überzeugend, daß viele Forscher, auch nach der Erkenntnis der wahren Bedeutung dieses isoagglutinatorischen Vorganges dieser Deutung sich anschlossen. Allmählich setzte sich die Landsteinersche Theorie durch, und es setzten weitere Forschungen ein, die sämtlich auf dieser Basis weitergeführt wurden. Zwei Jahre später, 1903, konnten Landsteiner und Richter das Ergebnis weiterer Forschungen veröffentlichen. Sie stellten insbesonders eine gewisse Konstanz der individuellen Blutgruppe fest und eröffneten gerade durch diese Wahrnehmung für den Anwendungsbereich — besonders in der gerichtlichen Medizin — ein weites Feld. Denn es ist ja klar, daß eine praktische Bedeutung der Blutgruppenforschung nur dann zustande kommen kann, wenn mit aller Sicherheit festgestellt wird, daß ein Mensch im Laufe seines Lebens die Blutgruppe nicht wechselt. Von fundamentaler Bedeutung ist dies natürlich für die gerichtliche Medizin, die ohne diese Feststellung auf die Verwendung der Ergebnisse der Blutgruppenforschung verzichten müßte. Es steht aber heute mit aller Sicherheit fest, daß sich die spezifische Gruppe eines Menschen im Laufe seines Lebens durch nichts ändert (Landsteiner, Richter, Dekastello, Sturli, Hirtsfeld, Schiff und Lattes). Es wurde zwar von einigen Forschern behauptet, dies wäre nicht der Fall; es konnte aber nachgewiesen werden, daß sie mit Fehlerquellen gearbeitet hatten.

Aber auf noch etwas wichtiges für die gerichtliche Medizin wiesen Landsteiner und Richter in ihrem Aufsatz in der „Zeitschrift für Medizinalbeamte“ 1903 hin. Es ist dies die Bestimmung der Blutgruppe am angetrockneten Blut. So leicht es auch in der Regel ist, die Blutgruppe eines Menschen an frischem Blut zu bestimmen, so schwierig und einer gründlicheren Technik bedürftig ist es, sie aus auf Gegenstände verschiedenster Art verspritzten und eine Zeitlang getrockneten Blutes festzustellen. Diese beiden Autoren waren es, die nun zuerst eine Methode angaben, um aus solch angetrocknetem Blut noch nach längerer Zeit eine Blutgruppenbestimmung durchzuführen. Sie ließen auf verschiedenen Gegenständen Blutstropfen trocknen; Blut, dessen Gruppe im frischen Zustande bestimmt wurde, den Forschern aber unbekannt blieb; kratzten es sorgfältig ab und fügten ihm frische Blutkörperchen bekannter Gruppe zu. Sie beobachteten die Reaktion im hängenden Tropfen bei Zimmertemperatur durch eine Stunde. Es gelang ihnen in den meisten Fällen, die Gruppe richtig zu bestimmen. Als Kontrolle diente ihnen die vorher an frischem Blut erzielten Resultate. Sie warnen jedoch davor, zu sehr Gewicht auf diese Bestimmung zu legen, dadurch das Austrocknen der Agglutinine geschwächt oder gar verändert würden. In forensischen Fällen raten sie, eher eine Person auf Grund der Gruppenbestimmung auszuschließen als jemanden als mutmaßlichen Täter hinzustellen. Von 14 untersuchten Personen konnten sie, nachdem die angetrockneten Proben bis zu 4 Monaten aufbewahrt wurden, trotzdem die Blutgruppe einwandfrei feststellen. Längere Zeit nach der Landsteinerschen Entdeckung wurde in dieser Richtung, abgesehen von der Erblichkeitsforschung, die von Dungern und Hirschfeld 1910 entdeckt wurde, wenig gearbeitet, bis Autoren, wie L. Lattes, F. Schiff und später Holzer, den von Landsteiner und Richter gezeigten Weg verfolgten und durch neuere Forschungen die Blutgruppenuntersuchung für die gerichtliche Medizin besser verwertbar machten. Besonders hat sich die Aufmerksamkeit der Differenzierung der Blutgruppen aus Flecken zugewandt. Eine große Bedeutung dieser Untersuchungen ergibt sich für die praktische gerichtliche Medizin. Es könnte vorkommen, daß einer eines Mordes Verdächtigte vielleicht unschuldig verurteilt wird, weil an seinen Kleidern Blutspuren gefunden werden, die im Zusammenhang mit schwerwiegenden Indizien auf ihn als Täter hinweisen. Hier kann man nun feststellen, ob diese Flecken tatsächlich der Gruppe des Opfers entsprechen oder nicht. Es wurde in der letzteren Zeit über viele solche Fälle berichtet (Lattes). So veröffentlicht G. Raestrup im Handbuch der Blutgruppenkunde von Stephan eine Anzahl in der Literatur gesammelter Fälle, die mit Hilfe dieser Methode einwandfrei zu einer Belastung oder Entlastung von Beschuldigten führten. Es war im besonderen Leone Lattes, der schon in den Jahren 1914—1915 den von Landsteiner ge-

wiesenen Weg beschritt und weiter ausbaute. In seinem Artikel in der deutschen „Zeitschrift für die gesamte gerichtliche Medizin", Band IX, 1927, Seite 402 „Praktische Erfahrungen über Blutgruppenbestimmung in Flecken", berichtet er über verschiedene gelungene Versuche — die er mit Hilfe einer von ihm erfundenen Verbesserung der Methode Landsteiner-Richter ausgeführt hat. Sie beruht auf dem Nachweis spezifischer Serumeigenschaften im angetrockneten Blut. Die Serumagglutinine werden hier mit Hilfe der Latteschen Objektträgermetode nachgewiesen. Der Gang der Untersuchung ist folgender: Man bringt auf einen Objektträger einen Extrakt der abgekratzten Blutfleckschüppchen in Kochsalzlösung, dazu eine Aufschwemmung von Blutkörperchen einer bekannten Gruppe A oder B und zur Kontrolle auf folche der Gruppe O und beobachtet eine eventuelle Agglutination. Mit Flecken geht Lattes folgendermaßen vor: Es wird bei niederer Temperatur, um die Agglutinine zu schonen, der Fleck mit wenig destilliertem Wasser aufgeweicht, mit zwei Gläsern der Extrakt herausgepreßt und auf einem Objektträger getrocknet. Dazu wird, wie oben, eine Aufschwemmung von Blutkörperchen bekannter Art hinzugetan. Es wird dann beobachtet, ob am Rand des eingetrockneten Extraktes eine Agglutination erfolgt oder nicht. Diese Methode bezieht sich, wie alle vorhergehenden, auf das Vorhandensein von Agglutininen in der getrockneten Masse, die dann die Blutkörperchen außer derselben Gruppe oder der Gruppe O agglutinieren. Eine andere Methode nach Müller verfährt folgendermaßen: Es wird ein syrupdicker Extrakt auf viel Trockensubstanz gemacht, um aus viel minderwertigem Material wenig, aber möglichst hochwertiges zu bekommen; also die Agglutinine in konzentrierter Form darzustellen. Holzer, der die Versuche nachprüfte, sah keine guten Resultate. Neuerdings hat man, insbesondere Holzer festgestellt, daß die Agglutinogene, das heißt die agglutinable Substanz in den Blutkörperchen sich länger hält und gegen Austrocknung widerstandsfähiger ist, als die Agglutinine. Auf dieser Feststellung fußt nun eine andere Methode, die sogenannte Absorbtionsmethode, die von folgenden Gedankengängen ausgeht: Wenn man einem Blutfleck z. B. der Gruppe A ein Serum O zusetzt, welches Anti-A und Anti-B enthält, wird durch das Agglutinogen im Flecke A das Anti-A gebunden, und eine Agglutination dürfte nach Zusetzen von Blutkörperchen A zum Serum-Fleckextrakt nicht mehr erfolgen, wogegen B-Blutkörperchen noch agglutiniert werden, da das Anti-B in keiner Weise angegriffen wird. Wenn man einem unbekannten Fleck Serum O zusetzt und es einwirken läßt, kann man feststellen, ob und welches Agglutinogen gebunden ist. Wird kein Agglutinin durch den Blutfleck gebunden, das heißt, agglutiniert nach der Behandlung das Serum O die Blutkörperchen A und B, so bedeutet das, daß der Fleck der Gruppe O angehörte. Wird nun das Anti-A ge-

bunden, so daß der Serumfleckextrakt Blutkörperchen A nicht mehr agglutiniert, so gehörte der Fleck der Gruppe A an. Werden Blutkörperchen der Gruppe B nicht mehr agglutinier, so gehörte der Fleck der Gruppe B an. Wenn der Fleck der Gruppe AB angehörte, bindet er aus dem Serum O das Anti-A und Anti-B so daß nachher das O-Serum nicht mehr eine Agglutination zeigt. Es kommt aber oft nicht zu einer vollständigen Bindung, sondern zu einer Abschwächung, die mit steigernder Verdünnung des O-Serums festgestellt wird (Holzer, G. Straßmann). Holzer verwandte zu 0,01 g Trockensubstanz 0,1 ccm Serum. Die Versuche wurden etwa folgendermaßen gemacht: In 6 cm langen Röhrchen mit einer Weite von 5—6 mm wurden etwa 10 mg Trockenblut getan. Handelt es sich um Flecken, so werden sie entweder gewogen und das Gewicht des gleichgroßen reinen Leinwandfleckens abgezogen oder das Gewicht der Leinwand unberücksichtigt gelassen. Danach wurden die Röhrchen mit Serum beschickt und für 24 Stunden in den Kühlschrank gestellt. Sodann wird je ein Tropfen zur weiteren Auswertung entnommen. Das benützte Serum soll womöglich die gleiche Wertigkeit wie die Testblutkörperchen haben. Holzer fordert, daß möglichst genau die Wertigkeit des Serums vor dem Einlegen geprüft wird. Zugleich mit dem Einlegen der Blutflecke in das Serum werden Röhrchen mit demselben Serum eingelegt unter gleichen Bedingungen wie die Proben, und nach Ablauf der 24 Stunden nochmals auf seine Wertigkeit geprüft, um eine eventuelle Abschwächung auf die Versuche zu beziehen. Wie weiter unten angegeben wird, kann ich die Befürchtung vieler Autoren, daß Resultate, die nicht einwandfrei waren, auf die nicht konstante Wertigkeit des Serums zurückzuführen sei, in vollem Umfange bestätigen. Holzer nimmt an, daß stärkere Sera ungleich bessere Resultate ergeben wie schwache, da das Bindungsvermögen der agglutinogenen Substanz eher gesättigt wird als mit dem schwachen Serum. Nach G. Straßmann soll die Gefahr unspezifischer Abschwächung bei schwächeren Sera in höherem Maße bestehen als bei starken. Aus den Versuchen Holzers ersieht man erstens, daß schwächere Sera, alo z. B. solche mit Diter 1:8 die Blutkörperchen erheblich weniger agglutinieren als ein Serum mit Diter 1 : 16. Zweitens, daß das Agglutinationsvermögen im Serum O meist größer ist gegen die Blutkörperchen A als gegen die Blutkörperchen B. Zu demselben Resultat gelangte auch G. Straßmann. Folgende Tabelle möge dies veranschaulichen:

	Serum $^1/_8$	Serum $^1/_{16}$
Blutkörperchen	A = 2,7	3,5
„	B = 2,4	2,8.

Es können natürlich auch falsche Resultate bei der Gruppenbestimmung vorkommen, meistens bei B, da es in der Regel schwächeres Bindungsvermögen hat. Jedoch sind diese Fehlresultate im Verhältnis zu den guten Ergebnissen klein. Es ist

bei jedem Versuche strengstens darauf zu achten, daß auch Flecke ohne Blut als Kontrollen mit dem Serum O eingelegt werden, um eine eventuelle unspezifische Abschwächung durch die Leinwand bedingt zu erkennen. Holzer nimmt durchschnittlich 8—10 % Versager an. Abschließend betont er nochmals, die Unterlagen, mit denen gearbeitet wird, aufs sorgfältigste zu prüfen. So würden sich am ehesten Fehlresultate vermeiden lassen. Versuche nach der Methode von Holzer wurden von G. Straßmann gemacht und hierbei folgendes festgestellt: Die Sera, die verwendet werden, sollen einen Mindesttiter von $^1/_{16}$ gegen A und B haben. Die Blutmenge beträgt 10 mg, aber auch 5 mg können benützt werden. Hier muß man jedoch das Serum bis auf $^1/_3$ oder $^1/_4$ verdünnen, jedoch nicht weniger als 0,1 ccm Serum. Es stellte sich im Laufe der Versuche heraus, daß es am besten ist, 10 mg Trockensubstanz mit 0,15 ccm Serum, das auf die Hälfte verdünnt ist, zu versetzen. Es kamen bedeutend bessere Resultate als mit 5 mg auf 0,1 ccm verdünntes Serum heraus. Fortschreitende Verdünnung des Serums kann man am besten in Porzellanplatten mit Kochsalzlösung herstellen. Die Verdünnungen werden für gewöhnlich bis $^1/_{64}$ gemacht, wenn der Titer des Serums bis dahin geht. Sodann wird die Agglutination innerhalb gewisser Zeiten beobachtet. G. Straßmann empfiehlt, die Agglutination nicht länger als höchstens 30 Minuten zu beobachten, da nachher unspezifische Reaktionen aufzutreten pflegen, die das Bild des Versuches ungünstig zu beeinflussen imstande sind. Es wird also nach 5 Minuten, 10 Minuten, 15 Minuten, 20 Minuten und 30 Minuten beobachtet. Später eintretende Veränderungen sind nicht zu beachten. Unspezifische Abschwächungen möglichst auszuschließen, behandelt man zu gleicher Zeit einen Flecken von demselben Tuche, jedoch ohne Blut, mit Serum. Solche unspezifische Abschwächungen haben schon Holzer, Cipp und Straßmann festgestellt und haben sie auf Gewebe und andere noch unbekannte Ursachen zurückgeführt. Zu den Fällbestimmungen in den Versuchen Holzers ist noch hinzuzufügen, daß sie auch durch schwache Ausbildung der agglutinablen Substanz hervorgerufen werden können, da die Agglutinine durch einen schwachen Rezeptor in geringerem Maße gebunden werden.

Die Bestimmung der Blutgruppe in Blutflecken mit der Absorbtionsmethode ist ziemlich sicher, wenn auch durch Abschwächung der Agglutinogene oder eine unspezifische Abschwächung durch den Stoff vorkommt. Weniger sicher und leicht ist es, die Gruppe in solchen Blutflecken zu bestimmen, in denen die agglutinable Substanz einer Einwirkung durch verschiedene Reagenzien ausgesetzt wurde. Inwieweit eine Zerstörung oder Abschwächung unter Einwirkung dieser Reagenzien erfolgt, soll Thema meiner Arbeit werden.

Es mögen Fälle vorkommen, wo ein Täter nach vollbrachter

Tat nach Hause geht und die auf seine Bekleidung verspritzten Blutstropfen des Opfers einer mehr oder minder sorgfältigen Reinigung unterzieht. Es sollte nun festgestellt werden, inwieweit diese Blutflecken unter Einwirkung von Reagenzien zerstört werden, mit anderen Worten: wieweit die agglutinable Substanz dadurch angegriffen wird. Wenn man davon ausgeht, daß ein Blutfleck der Blutgruppe A einem Serum O, welchem Anti-A entzogen wird, also durch nachherige Behandlung durch eine Aufschwemmung von Blutkörperchen der Gruppe A keine Agglutination erfolgen dürfte, immer die Vorbehalte einer guten Technik, keiner Abschwächung der Agglutinogene und unspezifischen Schwächung vorausgesetzt, so müßte bei einer Zerstörung der agglutinablen Substanz durch irgendwelche Reagenzien trotz Behandlung des Fleckes A mit Serum O eine Agglutination mit A-Blutkörperchen auftreten. Es wäre hiermit ein Prüfstein für die Einwirkungskraft der verschiedenen zerstörenden oder abschwächenden Reagenzien gegeben. Es wurden verschiedene Versuche von mir gemacht, um die Wirkung der Reagenzien zu erproben, dabei wurde berücksichtigt, daß einem Täter eigentlich zu diesem Berufe nur beschränkte Mittel zur Verfügung stehen. In den meisten Fällen wird wohl zur Beseitigung von Blutflecken kaltes Wasser benützt, da es, wenn auch nicht allgemein, so doch in weiten Kreisen bekannt ist, daß kaltes Wasser Blutflecken am besten entfernt. In allen Kliniken und Spitälern werden blutbefleckte Bandagen in kaltes Wasser gelegt und für einige Stunden darin gelassen, bevor die übliche Methode der Reinigung einsetzt. In zweiter Reihe, wohl mit Unrecht, kommt, wie man aus meinen Versuchen ersehen kann, das warme Wasser in Frage. Unter dem Einfluß der gewohntheitsmäßigen Annahme, daß warmes Wasser gut reinige, werden viele dies benützen. Weiterhin kämen Laugen in Betracht, die ebenso wie Säuren im Rufe sauberer Reinigung stehen, ferner Benzin, Wasserstoffsuperoxyd, Alkohol, Spiritus u. a. Es wurde folgendermaßen vorgegangen:

Blutflecke bekannter Herkunft, deren Gruppe vorher an frischem Blut festgestellt worden war, wurden in ein vorher genau ausgewertetes Serum eingelegt und durch 24 Stunden darin bei Zimmertemperatur liegen gelassen. Nach 24 Stunden wurde mit dem Blutfleck-Serumextrakt die Agglutination mit A- und B-Blutkörperchen beobachtet. Der genaue Vorgang und die Beschreibung der Apparatur wird hier in Kürze wiedergegeben.

Es werden auf Leinwand Blutflecke mit Blut einer vorher bestimmten Gruppe A gemacht und 24 Stunden angetrocknet. Sodann werden gleichgroße und gleichschwere Fleckchen von 0,015 g herausgeschnitten. Diese Fleckchen wurden in Gläschen von ungefähr 8 cm Länge und ca 7 mm Weite gebracht und 0,15 ccm Serum O oder B hinzugefügt. Diese Gläschen werden 20 bis 48 Stunden stehen gelassen und nachher wird je ein

Tropfen Extrakt zwecks weiterer Auswirkung entnommen. Um Verdünnungen herzustellen, wird von G. Straßmann eine Art Porzellanplatten von 12 cm Länge und ca. 8 cm Breite benützt, die 12 gleichgroße Vertiefungen von 2 cm Breite und 1 cm Tiefe besitzen. In jede dieser Vertiefungen wird je ein Tropfen 0,8prozentige Kochsalzlösung hineingetan. Die erste Vertiefung wird freigelassen. In diese kommt ein Tropfen Serum unverdünnt. In die zweite wiederum ein Tropsen Serum. Nun wird mit einer Pipette der Tropfen Serum in die zweite Vertiefung gebracht, von hier wieder ein Tropfen aufgesogen, in die dritte Vertiefung getan und auch hier sorgfältig gemischt, so daß ein weiterer Tropfen in die nächste Vertiefung und so weiter befördert. Der jeweils aufgezogene Überschuß wird in die vorhergehende Vertiefung zurückgetan. So ergibt sich in der ersten Vertiefung keine Verdünnung, also 1 : 1, in der zweiten eine halbe Verdünnung, in der dritten $^1/_4$, dann $^1/_8$, $^1/_{16}$ usw. Ich habe meine Verdünnungen der jeweiligen Wertigkeit des Serums angepaßt, kam jedoch nicht über eine Verdünnung von über $^1/_{16}$, da das Serumtiter nicht höher als $^1/_{16}$ war. Die Reaktion wurde sowohl mit unbewaffnetem Auge wie als auch unter dem Mikroskop beobachtet. In einzelnen Versuchen ergaben sich im allgemeinen gute Ergebnisse, die aber durchaus nicht immer mit den Erwartungen übereinstimmten.

Versuch I.

Ein Blut bekannter Blutgruppe, nämlich A (Eigenblut), dessen Titer vorher geprüft wurde und mit einem bekannten Serum O die Wertigkeit von einwandfrei $^1/_{16}$ ergab (der Titer der Agglutinabilitär der A-Blutkörperchen wäre wohl erheblich größer geworden, wenn ein stärkeres Serum O zur Verfügung gestanden hätte) wird auf Leinwand (Boranzyck) ausgestrichen und 24 Stunden trocknen gelassen. Hierauf werden Proben von 0,015 Gewicht ausgeschnitten und der Einwirkung der verschiedenen Reagenzien überlassen. Es wurde folgendermaßen vorgegangen: Je eine Probe von 0,015 g wird:

I. 10 Minuten im kalten Wasser,
10 Minuten im warmen Wasser,
10 Minuten in Essigsäure, 30 %,
10 Minuten in Lauge, 10 %,

II. $^1/_4$ Stunde im kalten Wasser,
$^1/_4$ Stunde im warmen Wasser,
$^1/_4$ Stunde in Essigsäure, 30 %,
$^1/_4$ Stunde in Lauge, 10 %,

III. $^1/_2$ Stunde im kalten Wasser,
$^1/_2$ Stunde im warmen Wasser,
$^1/_2$ Stunde in Essigsäure, 30 %,
$^1/_2$ Stunde in Lauge, 10 %,

behandelt. Danach werden die so behandelten Flecke aus der Flüssigkeit herausgenommen und an der Luft getrocknet. Nach dem sie ganz trocken waren, wurden sie jedes in ein Glasröhrchen getan und Serum B, dessen Titer vorher mit frischen Blutkörperchen A bestimmt wurde und das die Wertigkeit von $^1/_{16}$ besaß, hinzugetan. Das Serum wurde unverdünnt benützt. Die Menge des beigefügten Serums betrug 0,1 ccm. Es wurde so berechnet, daß es möglich war nachdem ein gewisses Quantum von dem trockenen Blutfleck aufgesogen war noch immer die Möglichkeit der Entnahme eines Tropfens für die folgenden Versuche bestand. Ich benützte Serum B, da kein gleichstarkes Serum zur Verfügung stand andererseits im Serum B ebenfalls das Agglutinin Anti-A vorhanden ist und somit die gleichen Resultate ergeben müßte wie mit Serum O. In anderen Röhrchen wurde ein unbehandelter Blutfleck der gleichen Gruppe A, der ebenfalls mit Serum B beschickt, ferner eine Probe Leinwand ohne Blut von der genau gleichen Größe wie die mit Blut behandelten Proben um eine eventuelle unspezifische Abschwächung feststellen zu können. Endlich wurde noch ein Röhrchen mit 0,1 ccm Serum B angesetzt um eine Abschwächung des Serums, sei es durch die Zeit, sei es durch andere Einwirkung, auszuschließen. Diese Röhrchen blieben bei Zimmertemperatur durch 24 Stunden stehen, damit das Agglutinogen das Anti-A binden konnte. Nach Ablauf dieser Zeit wurde den Röhrchen je ein Tropfen des Blutfleck A Serum B-Gemisches entnommen und in die oben beschriebene erste Vertiefung, in der sich ein Tropfen Kochsalzlösung befand, getan, so daß mit einer halben Verdünnung angefangen wurde. Aus der ersten Vertiefung wurde, nachdem der Tropfen Serum mit dem Kochsalztropfen gut durchgemischt war, wieder ein Tropfen aufgesaugt und in die nächste Vertiefung, wo sich ein Tropfen Kochsalzlösung wieder befand, gebracht. Hier ergibt sich nun Verdünnung von $^1/_4$ usw., also $^1/_8$, $^1/_{16}$. Ergebnisse siehe Tabelle I und II.

Versuch II.

Dieselben Proben, die im vorigen Versuch eingelegt und geprüft wurden, werden im ganzen 48 Stunden stehen gelassen und nochmal der gleichen Untersuchung unterzogen.

Resultate siehe Tabelle III.

Versuch III.

Ein Blut A, jedoch ein anderes als in den vorigen zwei Versuchen benütztes, wird der gleichen Prozedur unterworfen und mit dem Serum B (Titer noch immer $^1/_{16}$) angesetzt. Diese Proben werden nach 16 Stunden geprüft und ergeben die in der Tabelle IV angeführten Resultate.

Versuch IV.

Dieselben Proben werden nach Ablauf von 24 Stunden wiederum untersucht. Siehe Tabelle V.

Versuch V.

Dieselben Proben werden nach Ablauf von 40 Stunden geprüft. Tabelle VI.

Versuch VI.

Ein mit Blut B getränkter Fleck wird nach der oben angegebenen Methode behandelt und mit Serum A — Titer $^1/_{16}$ — angelegt. Diese Flecken wurden vorher mit folgenden Reagenzien behandelt:

I. 10 Minuten mit kaltem Wasser,
10 „ „ warmen Wasser,
10 „ „ Essigsäure, 30 %,
10 „ „ Lauge, 10 %,
II. $^1/_4$ Stunde mit kaltem Wasser,
$^1/_4$ „ „ warmen Wasser,
$^1/_4$ „ „ Essigsäure, 30 %,
$^1/_4$ „ „ Lauge, 10 %,
III. $^1/_2$ „ „ kaltem Wasser,
$^1/_2$ „ „ warmen Wasser,
$^1/_2$ „ „ Essigsäure, 30 %,
$^1/_2$ „ „ Lauge, 10 %.

Nach der üblichen Behandlung ergeben diese Proben nach 24 Stunden die Ergebnisse der Tabelle VII.

Versuch VII.

Getrocknete Blutflecke A werden einer Behandlung mit Essigsäure in verschiedenen Verdünnungen unterzogen, und zwar:

Je 1 % Essigsäure
3 % „
6 % „

durch 15 Minuten. Siehe Tabelle VIII.

Versuch VIII.

Blutflecke A werden in kaltem Wasser durch 15 Stunden, 24 Stunden, 48 Stunden liegen gelassen. Behandlung mit Serum B (Titer $^1/_{16}$). Tabelle IX.

Versuch IX.

Blutflecke A werden in kochendes Wasser gebracht: Je 1 Minute, 2 Minuten, 5 Minuten und 12 Minuten. Serum B (Titer $^1/_{16}$). Tabelle X.

Versuch X.

Blutflecke B werden der Einwirkung folgender Reagenzien unterworfen:

Je 15 Minuten

a) kaltes Wasser,
b) warmes Wasser,
c) Essigsäure, 30 %,
d) Essigsäure, 6 %,
e) Essigsäure, 3 %,
f) Essigsäure, 1 %,
g) Natronlauge, 10 %,
h) Natronlauge, 5 %,
i) Natronlauge, 2 %,
k) Natronlauge, 1 %,
l) 5 Minuten in kochendes Wasser.

Serum A (Titer $^1/_{16}$). Ergebnisse: Tabelle XI.

Versuch XI.

Blutflecke A werden in Spiritus-Denat . . . 15 Minuten
„ Alkohol abs. (96 %) . 15 „
„ „ (50 %) . . 15 „
„ „ (25 %) . . 15 „
„ Benzin . . . . . 15 „
„ Wasserstoffsuperoxyd 15 „

eingelegt. Serum B (Titer $^1/_{16}$). Tabelle XII a.

Versuch XII.

Blutflecke B werden in Spiritus-Denat . . . 10 Minuten
„ Alkohol abs. (96 %) . 10 „
„ „ (50 %) . . 10 „
„ „ (25 %) . . 10 „
„ Benzin 5 Minuten + 15 „
„ Wasserstoffsuperoxyd 3 Minuten + 5 „

eingelegt und mit Serum A (Titer $^1/_{16}$) geprüft. Tabelle XII b.

Was kann man aus diesen Versuchen entnehmen?

A. Die Einwirkung des kalten Wassers auf die agglutinable Substanz ist unverkennbar. Wie schon oben bemerkt, zerstört kaltes Wasser in erheblichem Maße die Agglutinogene. Aus dem Ergebnis der Versuche kann man ersehen, daß, wo immer kaltes Wasser auf Blutflecke einwirkte in schwächeren Verdünnungen Agglutination eintrat, d. h. es muß die agglutinable Substanz durch das kalte Wasser vernichtet worden sein, folglich konnte das dazu gehörige Agglutinin nicht entzogen werden. Jedoch konnte ich eine Agglutination bis zur Verdünnung $^1/_{16}$, d. h. bis zur Wirkungsbreite des Serums, das benützt wurde, nicht erzielen, worauf dies zurückzuführen ist, kann ich nicht mit Sicherheit angeben. Es ist wahrscheinlich so zu erklären, daß eine unspezifische Abschwächung, die auf Gewebsreste u. a. noch unbekannte Faktoren zurückzuführen ist, eintritt. (Holzer, G. Straßmann.) Andererseits wird nur ein Teil der Agglutinine, und

zwar der erheblichere vom Agglutinogen gebunden, so daß nur eine Abschwächung der Agglutinine eintritt. Diese Abschwächung ist fast bei allen Versuchen mit den benutzten Reagenzien erkennbar.

B. Das warme Wasser hat keine so große Wirkung auf die Agglutinogene. Man kann im Gegenteil durchweg feststellen, daß die agglutinable Substanz in viel geringerem Maße angegriffen wird und eine Agglutination des Serum B Fleck A-Extrakts mit Blutkörperchen A nur in der halben bis $^1/_4$ Verdünnung erfolgt.

C. Das Kochen der Blutflecke in Wasser zerstört die agglutinable Substanz um so eher, je mehr sie dem kochenden Wasser ausgesetzt wird.

D. Die Essigsäure zerstört die Agglutinogene, wenn auch nicht vollständig aber doch in erheblicher Weise. Die Agglutination war in den Verdünnungen $^1/_2$ bis $^1/_8$ immer positiv. In den stärkeren Verdünnungen fällt die Agglutination meist aus. Ob es nun auf einer unspezifischen Abschwächung beruht, oder ob die Agglutinogene nicht vollständig zerstört werden, kann ich nicht sagen, ich neige der ersteren Auffassung zu, da, in fast allen Versuchen, ob es sich nun um sicher zerstörende oder sicher nicht zerstörende Reagenzien handelt, die Abschwächung bis zu 1 Grad der Verdünnung geht, der dem Serumtiter keinesfalls entspricht. Die Essigsäure zerstört selbst in Verdünnungen von 1 %, wenn auch nicht so erheblich wie die höher prozentige, die agglutinable Substanz.

E. Die Lauge (in meinen Versuchen Kali- als auch Natronlauge) läßt die Substanz ziemlich unzerstört. Es ergibt sich hier aber der interessante Fall, daß die höher prozentige Lauge (10 % ig) die Substanz weniger schädigt als die stärkere Verdünnung (1 und 2 %). Ich habe dies darauf zurückgeführt, daß in einer stärkeren Verdünnung der Lauge, das Wasser besser imstande ist, auf die Blutkörperchen einzuwirken und den konservierenden Einfluß der Lauge auszuschalten. Damit wäre ein weiterer Beweis für die Zerstörungskraft des kalten Wassers gegeben.

F. Durch Alkohol wird das Agglutinogen zerstört und dies um so mehr je höher prozentig er ist. Aber auch bei niederprozentigem Alkohol ist eine Zerstörung festzustellen.

G. Benzin greift die agglutinable Substanz in erheblichem Maße an, und zwar zerstört das im Handel übliche die Agglutinogene vollständig.

H. Wasserstoffsuperoxyd zerstört, wie es auch zu erwarten war, die Gruppensubstanz schon in der kurzen Zeit von 3 Minuten vollständig.

J. Spiritus (der gewöhnliche im Handel erhältliche, dematurierte) zerstört die Agglutinogene ebenfalls.

Im Allgemeinen wäre zu den Versuchen und deren Unterlagen noch folgendes zu sagen: Ein Unterschied zwischen der Zerstörungsbereitschaft der Agglutinogene der Blutgruppen A und B konnte nicht gefunden werden. Über die Einwirkungszeit des Serums auf den Blutfleck ist folgendes zu bemerken: In meinem Versuche Nr. III Tabelle IV sieht man ganz andere Ergebnisse als in den folgenden Versuchen IV mit Tabelle V. Während im ersten Fall die agglutinable Substanz, d. h. der Blutfleck vollständig ausgeschaltet zu sein scheint, das Serum B in vollständigem Besitz des Agglutinins Anti-A ist und also durchwegs Agglutination mit dem Blutkörperchen A erfolgt, sieht man im zweiten Fall, Versuch IV Tabelle V, dieselben Proben unter denselben Bedingungen für noch 8 Stunden, d. h. bis zu vollen 24 Stunden stehen gelassen, andere Resultate ergeben. Nachdem sie 16 Stunden zuerst in Serum gelegen hatten, waren sie noch nicht imstande dem Serum das Anti-A zu entziehen. Worauf ist dies zurückzuführen? Erstens könnte das Serum so stark sein, daß es nur in dieser Zeit einen kleinen Teil seines Anti-A abgegeben hat und es einer längeren Einwirkung bedurfte um es vollständig zu entziehen. Eine nochmalige Prüfung des Titers mit Blutkörperchen A zweier verschiedener Personen ergibt jedoch immer $^1/_{16}$. Also kann es nicht daran liegen. Zweitens könnten die Blutflecke zu alt sein. In diesem Falle waren sie jedoch erst drei Tage alt, während ich Versuche mit zwei Wochen alten Flecken machte, die gute Resultate ergaben, also wäre auch dies auszuschließen. Drittens die Zeit, nämlich man könnte annehmen, daß das Agglutinogen zu wenig Zeit hatte dem Serum B das Anti-A zu entziehen. Es ist wohl dies der hauptsächlichste Grund, denn Versuch IV Tabelle V zeigt erheblich bessere Ergebnisse. Nach G. Straßmann ist es angezeigt das Serum mindestens 24 Stunden auf die Blutflecke einwirken zu lassen und ich kann nach den gemachten Erfahrungen mit meinen Versuchen dies vollständig bestätigen.

Ein besonderer Abschnitt sei der schlechten Haltbarkeit des Serum gewidmet. Nicht wenige Versuche erwiesen sich als mißlungen, da die Seren, oft schon am nächsten Tage ihren Titer wechselten, oft um ein erhebliches abnahmen. Die Forderung sie in Kühlschränken aufzubewahren ist sehr berechtigt, wenngleich ich feststellen muß, daß Zersetzung auch hier erfolgt (es handelt sich hier um nicht steril entnommenes Leichenserum). Es ist daher zweckmäßig, ja notwendig, wenn Versuche gelingen sollen jedes benützte Serum v o r dem Versuch und n a c h dem Versuch zu titrieren und eventuelle Unterschiede auf den Versuch zu beziehen.

Bezüglich der Technik wäre folgendes zu sagen: Die von Professor Reuter eingeführte Pipette mit Gummiballon hat sich bewährt, ebenso die Porzellanplatten.

Literatur.

Böhmer: Blutgruppen und Verbrechen. Dtsch. Zeitschrift f. die ges. ger. Medizin. Bd. 9, 1927, S. 426.

Burkle de la Camp: Die praktische Bedeutung der Blutgruppenforschung. Handbuch der Blutgruppenkunde von Stefan, 1932, S. 331.

Häsch: Die Entwicklung der Blutgruppenforschung 1901—1931. Handb. d. Blutgruppenkunde von Stefan, 1932.

Holzer: Ein einfaches Verfahren zur Gruppenbestimmung an vertrocknetem Blut durch Agglutininbildung. Dtsch. Zeitschrift f. d. ges. ger. Medizin, Bd. 16, 1931, S. 445.

Landsteiner-Richter: Über die Verwertbarkeit individueller Blutdifferenzen für die forensische Praxis. Zeitschrift f. Medizinalbeamte 1903, S. 85.

Lattes: Praktische Erfahrungen über Blutgruppenbestimmung in Flecken. Dtsch. Zeitschrift f. d. ges. ger. Medizin. Bd. 9, 1927, S. 402.

Moskow: Beitrag zur Individualdiagnose des Blutes. Dtsch. Zeitschrift f. d. ges. ger. Medizin, Bd. 19, Heft 9, 1932, S. 309.

Balmieri: Die Blutgruppenbestimmung an der Leiche. Dtsch. Zeitschrift f. d. ges. ger. Med. Bd. 18, S. 446.

Poppoff: Isoagglutination und ihre forensische Anwendung in Rußland. Dtsch. Zeitschrift f. d. ges. ger. Medizin, Bd. 9, 1927, S. 401.

Raestrupp: Die Blutgruppenkunde in der gerichtlichen Medizin. Handb. der Blutgruppenkunde von Stefan, 1932, S. 331.

Schiff: Die Blutgruppen und ihre Anwendung vor Gericht. Dtsch. Zeitschrift f. d. ges. ger. Medizin, Bd. 9, 1927, S. 369.

Schiff: Die Technik der Blutgruppenuntersuchung für Kliniker und praktische Ärzte. Berlin 1932.

Schiff: Über die gruppenspezifischen Substanzen im menschlichen Körper. Jena 1931.

Schött: Die Technik der Blutgruppenbestimmung. Handb. d. Blutgruppenkunde v. Stefan, 1932.

G. Straßmann: Die Blutgruppenbestimmung an Blutflecken. Dtsch. Zeitschrift f. d. ges. ger. Medizin, Bd. 19, Heft 4, S. 302.

Thomson: Die Serologie der Blutgruppen. Handb. d. Blutgruppenkunde v. Stefan, 1932.

Zipp: Über den Einfluß von Gewebstoffen auf den Verlauf der Isohämoagglutination. Dtsch. Zeitschrift f. d. ges. ger. Medizin, Bd. 18, S. 66.

Lebenslauf.

Michael Schreiner, geboren am 22. Dezember 1906 in Radautz, Bezirk Radautz, Bukovina, Rumänien, besuchte in den Jahren 1912—1915 die Volksschule in Radautz, kam dann 1915 in die neu gegründete rumänische Volksschule, wo ich bis 1917 verblieb. Im Jahre 1917 kam ich in das deutsche Staatsgymnasium Radautz bis zum Jahre 1920 als es aufgelöst wurde, sodann weiter in das rumänische Gymnasium „Eudiu Hurmuzachi" Radautz bis zum Jahre 1925 und machte im Sommer 1925 das Bakkalaureat in Czernowitz. Im Herbst 1925 schrieb ich mich in die Medizinische Fakultät Bukarest ein. Hier trat ich auch in das Militärmedizinische Institut ein. Nach einem Jahre trat ich aus diesem Institut aus und wurde als Einjährigfreiwilliger zum rumänischen Militärdienst eingezogen. 1927 schrieb ich mich wiederum in die Medizinische Fakultät Bukarest ein. 1928 nach Ablegung meiner Examina in Bukarest fuhr ich nach Deutschland, immatrikulierte in Tübingen, wo ich 4 Semester blieb und 1930 das Physikum bestand. 1931 immatrikulierte ich in Würzburg, 1932 in Breslau. Das Staatsexamen bestand ich 1933 in Breslau.